

文章编号: 0529-6579 (2000) S-0271-07

斑节对虾与黑斑口虾蛄血相的比较研究^{*}

廖永岩, 周友广, 叶富良

(湛江海洋大学水产学院养殖系, 广东 湛江 524025)

摘 要: 对斑节对虾(*Penaeus monodon*) 和黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kemp*i) 的血相进行了比较研究. 结果表明, 斑节对虾及黑斑口虾蛄的血细胞有三种类型: ①无颗粒细胞, ②小颗粒细胞, ③颗粒细胞. 斑节对虾的无颗粒细胞、小颗粒细胞、颗粒细胞分别占循环血细胞总数的 47.3%、13.1% 和 39.6%; 而在黑斑口虾蛄无颗粒细胞、小颗粒细胞、颗粒细胞则分别占循环血细胞总数的 29.6%、31.7% 和 38.7%.

关键词: 斑节对虾(*Penaeus monodon*); 黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kemp*i); 血相; 比较

中图分类号: Q175 **文献标识码:** A

长期以来比较免疫学家对无脊椎动物是否有脊椎动物免疫分子前体一直在进行争论. 早期的观点集中在低等动物是否有可以显示抗体样物质存在的因子. 为此, 进行了广泛深入的研究, 试图证实抗体前体的存在, 但收效甚微. 如今普遍认为, 节肢动物和无脊椎动物缺乏免疫球蛋白, 但拥有一种开放式循环系统, 通过血细胞的吞噬、包裹、形成细胞凝结、凝集和溶菌等作用以清除入侵的病原和外来异物, 防止血液从伤口流失^[1]. 因此, 鉴定参与这些反应的细胞类型及比例是十分重要的.

斑节对虾(*Penaeus monodon*) 是目前中国南方养殖的主要经济虾类. 具有生长快, 适温、适盐范围广, 个体大, 杂食性等优点^[2]. 近年来, 虾病暴发流行, 造成极大的经济损失^[3], 因而有必要对斑节对虾的免疫能力进行研究.

口虾蛄(*Oratosquilla*) 是我国沿海常见口足类. 随着海洋经济鱼虾资源的减少, 开发利用口虾蛄资源的经济意义显得越来越大. 而黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kemp*i) 则更是其中体型肥胖, 很有养殖价值的一种^[4]. 国内外有关黑斑口虾蛄的资料, 仅有少量的有关形态、生态方面的报道^[4].

对虾类血细胞形态结构的研究, 国内外已有一些资料^[1], 而有关斑节对虾与黑斑口虾蛄的血相比较研究至今未见报道. 因而, 系统地研究这两种甲壳类动物的血细胞并加以比较, 既可为海水养殖甲壳类提供基础资料, 又可作为甲壳类病诊断的参考. 本文就斑节对虾与黑斑口虾蛄的血细胞进行显微观察和分类, 对核质比、血细胞大小等数值进行测定.

^{*} 收稿日期: 1999-09-15

1 材料与方法

1.1 实验虾来源

斑节对虾、黑斑口虾蛄均购自湛江市东风市场。选取附肢完整，活力强的斑节对虾 8 尾（♂4，♀4），黑斑口虾蛄 15 尾（♂12，♀3）供作实验材料。

1.2 血涂片的制作及显微观察

血涂片的制作参照文献 [5] 进行，取血前将虾体表的水分用滤纸拭干，然后用 2 mL 注射器从心脏取血，然后迅速制成血涂片。用 Wright 染色法、Geimsa 染色法及 Wright-Geimsa 混合染色法对涂片进行染色。Wright 染液、Geimsa 染液按文献 [6] 方法配制。常规法封片。随机选取斑节对虾及黑斑口虾蛄血涂片的视野，进行各种类型血细胞的统计。

核质比 = 细胞核长径 / (细胞核长径 - 细胞核短径)

2 结果与分析

2.1 斑节对虾和黑斑口虾蛄的形态观察

本实验用样本、体长及体质量测定结果为，斑节对虾体长，雄体 7.52~14.26 cm，雌体 7.20~17.53 cm；体质量，雄体 10.28~50.18 g，雌体 10.81~62.41 g。实验用黑斑口虾蛄体长雄体 9.47~15.18 cm，雌体 10.45~13.35 cm；体质量，雄体 15.43~35.11 g，雌体 17.02~17.30 g。

2.2 血细胞观察与血细胞分类

2.2.1 斑节对虾血细胞观察与血细胞分类 斑节对虾血细胞形态大小、核大小及核质比观察，结果见表 1。

表 1 斑节对虾血细胞大小、核质比及颗粒有无比较¹⁾

样品号	细胞形状	细胞大小/ μm	核形状	核大小/ μm	核质比	细胞质内颗粒
1	椭球	$a=5.6$ $b=4.5$	椭球	$a=4.1$, $b=3.0$	2.37	有，不明显，较小
2	球	$d=6.2$	球	$d=4.1$	1.95	有，明显，较大
3	球	$d=9.8$	椭球	$a=8.4$, $b=6.6$	3.26	有，明显，较大
4	球	$d=11.3$	球	$d=9.7$	6.06	无
5	球	$d=4.4$	球	$d=2.6$	1.93	有，不明显，较小
6	椭球	$a=5.1$, $b=3.8$	椭球	$a=3.6$, $b=2.0$	1.70	有，明显，较大
7	球	$d=4.1$	球	$d=3.3$	4.13	无
8	球	$d=9.8$	球	$d=8.1$	4.76	有，不明显，较小
9	球	$d=12.1$	球	$d=7.7$	1.75	有，明显，较大
10	椭球	$a=11.8$ $b=8.9$	椭球	$a=9.8$, $b=7.7$	4.17	有，不明显，较小

1) a 为长径， b 为短径， d 为直径

对斑节对虾血细胞显微构造进行研究，从表 1 可以看出，以血细胞大小、核质比大小和细胞质内颗粒的有无为标准，可将斑节对虾血细胞分为：①颗粒细胞，细胞较大，核质比小，胞浆内充盈大颗粒，核多不规则形；②小颗粒细胞，核质比较大，细胞球形或椭球形，胞浆内颗粒少而小；③无颗粒细胞，细胞较小，核质比大，胞浆内无颗粒。

2.2.2 黑斑口虾蛄血细胞观察与血细胞分类 在光镜下分别对黑斑口虾蛄血涂片之血细

胞随机取样，观察形态，研究细胞质内颗粒的有无，并用目微测微尺直接对血细胞大小、核大小进行测定，计算核质比，结果见表 2。

表 2 黑斑口虾蛄血细胞大小、核质比及颗粒有无比较¹⁾

样品号	细胞形状	细胞大小/ μm	核形状	核大小/ μm	核质比	细胞质内颗粒
1	球	$d=7.5$	球	$d=3.7$	0.97	有，明显，较大
2	球	$d=7.7$	球	$d=4.1$	1.14	有，明显，较大
3	椭球	$a=8.3, b=5.5$	椭球	$a=4.1, b=3.7$	1.30	有，不明显，较小
4	球	$d=8.1$	球	$d=5.1$	1.70	有，不明显，较小
5	球	$d=11.8$	球	$d=10.0$	2.11	有，不明显，较小
6	球	$d=12.6$	椭球	$a=9.7, b=7.3$	2.07	有，明显，较大
7	球	$d=8.1$	球	$d=3.6$	0.80	有，明显，较大
8	球	$d=8.8$	球	$d=5.1$	1.38	有，明显，较大
9	椭球	$a=6.7, b=5.1$	椭球	$a=4.7, b=4.1$	2.93	无
10	球	$d=9.0$	球	$d=7.6$	5.43	无

1) a 为长径， b 为短径， d 为直径

对黑斑口虾蛄血细胞显微构造进行研究，从表 2 可以看出，同样以血细胞大小、核质比大小和细胞质内颗粒的有无为标准，可将黑斑口虾蛄血细胞分：①颗粒细胞，细胞大，核质比小，胞浆内明显存在颗粒，核多不规则形；②小颗粒细胞，核质比较大，胞浆内有颗粒，但比颗粒细胞少而小；③无颗粒细胞，细胞小，核质比大，胞浆无颗粒。

2.3 斑节对虾各种血细胞之间的比较

根据以上将斑节对虾血细胞分为 3 类的基础上，对斑节对虾 3 种血细胞所占比例、3 种血细胞各自的形态学参数进行了比较。

2.3.1 斑节对虾各种血细胞所占比例 将斑节对虾的 3 类血细胞随机选取不同的视野，对其各自所占比例进行了统计，详细结果见表 3。

从表 3 可以看出，无颗粒细胞所占比例最大，为 47.3%，颗粒细胞所占比例次之，为 39.6%，小颗粒细胞所占比例最小，仅占 13.1%。

2.3.2 斑节对虾 3 种血细胞的细胞大小、核质比比较 对斑节对虾 3 种血细胞直接用显微测微尺分别进行细胞大小、核质比测定与计算，详细结果见表 4。

从表 4 可以看出，无颗粒细胞的细胞体积最小，而核质比最大；而颗粒细胞细胞体积最大，但核质最小。而小颗粒细胞则介于它们两者之间。所以，总的变化趋势是：从无颗粒细胞→小颗粒细胞→颗粒细胞，细胞体积越来越大，而核质比则越来越小。

2.4 黑斑口虾蛄 3 种类型血细胞之间的比较

和斑节对虾一样，对黑斑口虾蛄 3 种血细胞所占比例、3 种血细胞各自的形态学参数进行了比较。

表 3 斑节对虾血细胞形状及各类型所占比例

细胞类型	细胞形状	随机样品号						总计	比例/ %	合比例/ %
		1	2	3	4	5	6			
无颗粒细胞	球形	9	7	10	7	16	6	55	52.4	
	卵形	4	4	3	2	10	0	23	21.9	
	梭形	2	2	1	1	5	1	12	11.4	
	不规则形	2	2	1	3	5	2	15	14.3	
	小计	17	15	15	13	36	9	105	100	47.3
小颗粒细胞	球形	4	6	2	0	2	1	15	51.7	
	卵形	3	1	0	1	2	0	7	24.1	
	梭形	0	0	0	1	0	0	1	3.4	
	不规则形	1	3	1	0	0	1	6	20.7	
	小计	8	10	3	2	4	2	29	100	13.1
颗粒细胞	球形	4	3	4	17	7	19	54	61.4	
	卵形	3	2	2	2	0	3	12	13.6	
	梭形	0	0	0	1	0	2	3	3.4	
	不规则形	1	1	9	3	4	1	19	21.6	
	小计	8	6	15	23	11	25	88	100	39.6
合计		33	31	33	38	51	36	222	100	100

表 4 斑节对虾 3 种血细胞的细胞大小、核质比比较

无颗粒细胞			小颗粒细胞			颗粒细胞		
样品号	细胞大小/ μm	核质比	样品号	细胞大小/ μm	核质比	样品号	细胞大小/ μm	核质比
1	9.3×5.6	5.11	1'	12.0×12.0	2.82	1''	12.8×12.8	3.08
2	8.3×8.3	5.07	2'	8.6×8.6	2.40	2''	12.9×12.9	2.36
3	8.4×6.7	6.08	3'	12.8×12.8	2.65	3''	11.9×11.9	1.91
4	5.5×5.5	4.43	4'	10.0×6.4	3.76	4''	11.9×10.0	1.65
5	9.0×9.0	4.55	5'	14.6×12.5	3.24	5''	15.1×15.1	1.50
6	8.4×8.4	5.58	6'	11.5×11.5	3.05	6''	11.8×11.8	2.14
7	5.4×5.4	5.16	7'	9.0×9.0	4.50	7''	15.4×15.4	2.72
8	7.8×7.8	4.08	8'	12.2×12.2	1.98	8''	12.8×10.8	2.21
9	11.1×6.7	5.35	9'	9.6×9.6	3.64	9''	12.5×9.0	2.26
10	9.0×6.4	5.46	10'	9.5×6.0	3.21	10''	10.5×6.8	1.77
平均	8.2×7.0	5.08		11.0×10.1	3.13		12.8×11.6	2.16

2.4.1 黑斑口虾蛄各种类型血细胞所占比例 将黑斑口虾蛄 3 类血细胞随机选取不同的视野，对其各自所占比例进行了统计，详细结果见表 5。

从表 5 可以看出，黑斑口虾蛄 3 种血细胞所占比例明显与斑节对虾不同，颗粒细胞所占比例最大，为 38.7%，小颗粒细胞所占比例次之，为 31.7%，无颗粒细胞所占比例最小，仅占 29.6%。

表 5 黑斑口虾蛄血细胞形状及各类型所占比例

细胞类型	细胞形状	随机样品号						总计	比例/ %	合比例/ %
		1	2	3	4	5	6			
无颗粒细胞	球形	3	3	9	6	8	9	38	64.4	
	卵形	3	2	0	2	0	0	7	11.9	
	梭形	0	0	0	0	1	1	2	3.4	
	不规则形	4	3	2	1	1	1	12	20.3	
	小计	10	8	11	9	10	11	59	100	29.6
小颗粒细胞	球形	3	1	3	1	6	39	53	84.1	
	卵形	4	1	1	1	1	0	8	12.7	
	梭形	0	0	0	0	0	0	0	0	
	不规则形	0	0	2	0	0	0	2	3.2	
	小计	7	2	6	2	7	39	63	100	31.7
颗粒细胞	球形	6	11	11	8	11	13	60	77.9	
	卵形	1	3	1	1	2	0	8	10.4	
	梭形	0	1	0	0	0	0	1	1.3	
	不规则形	1	5	1	0	1	0	8	10.4	
	小计	8	20	13	9	14	13	77	100	38.7
合计		25	30	30	20	31	63	199	100	100

2.4.2 黑斑口虾蛄 3 种血细胞的细胞大小、核质比比较 对黑斑口虾蛄 3 种血细胞直接用显微测微尺分别进行细胞大小、核质比测定与计算，详细结果见表 6。

表 6 黑斑口虾蛄 3 种血细胞的细胞大小、核质比比较

无颗粒细胞			小颗粒细胞			颗粒细胞		
样品号	细胞大小/ μm	核质比	样品号	细胞大小/ μm	核质比	样品号	细胞大小/ μm	核质比
1	12.8×9.0	3.23	1'	6.4×6.4	1.36	1''	17.9×12.8	2.17
2	10.2×10.2	4.12	2'	10.2×10.2	2.83	2''	12.8×12.8	1.14
3	11.5×9.0	3.98	3'	11.5×11.5	2.86	3''	14.1×14.1	1.10
4	10.9×9.0	3.16	4'	9.0×9.0	1.94	4''	14.1×14.1	1.29
5	9.0×9.0	3.78	5'	11.5×9.0	3.32	5''	14.1×14.1	1.19
6	8.4×8.4	2.96	6'	12.8×10.0	3.68	6''	13.4×10.2	1.60
7	9.6×9.6	5.01	7'	10.2×10.2	2.52	7''	15.4×12.8	0.75
8	8.2×8.2	4.49	8'	10.2×10.2	1.95	8''	12.8×12.8	0.95
9	12.2×9.0	5.81	9'	12.8×10.2	3.09	9''	13.2×13.2	1.12
10	8.7×8.7	5.21	10'	13.3×13.3	3.41	10''	16.8×16.8	1.86
平均	10.1×9.0	4.18		10.8×10.0	2.70		14.5×13.5	1.31

从表 6 可以看出，从血细胞的形态学参数看，斑节对虾和黑斑口虾蛄非常相似，无颗粒细胞的细胞体积最小，而核质比最大；颗粒细胞细胞体积最大，但核质最小，而小颗粒细胞则介于它们两者之间。所以，总的变化趋势也是：从无颗粒细胞→小颗粒细胞→颗粒细胞，细胞体积越来越大，而核质比则越来越小。

2.5 斑节对虾和黑斑口虾蛄的血细胞比较

本实验通过显微观察，比较研究了斑节对虾、黑斑口虾蛄血细胞，具体情况见表 7。

从表 7 可以看出，无论在细胞大小还是在染色上，斑节对虾的无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞分别与黑斑口虾蛄的无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞极为接近，甚至相似。

表 7 斑节对虾与黑斑口虾蛄血细胞的比较

项目		斑节对虾			黑斑口虾蛄		
		无颗粒细胞	小颗粒细胞	颗粒细胞	无颗粒细胞	小颗粒细胞	颗粒细胞
Wright 染色	核染色	很深	较深	深	深	较深	较深
	胞质染色	不明显	浅	较深	不明显	较浅	较浅
Geimsa 染色	核染色	很深	较深	较深	深	较深	较深
	胞质染色	不明显	浅	较浅	很浅	较深	较浅
Wright-Geimsa 染色	核染色	很深	较深	深	很深	深	较深
	胞质染色	很浅	较浅	较浅	不明显	较深	较浅
各类型血细胞所占比例/%		47.3	13.1	39.6	29.6	31.7	38.7
细胞大小/ μm		8.2×7.0	11.0×10.1	12.8×11.6	10.1×9.0	10.8×10.0	14.5×13.4
核质比		5.08	3.13	2.16	4.18	2.70	1.31
常染色质		不明显	明显	明显	不明显	明显	明显
异染色质		明显	明显	明显	明显	明显	明显

3 讨 论

3.1 各类血细胞所占比例与功能的关系

叶燕玲等研究中国对虾循环系统的超微结构、分类和计数，透明细胞、小颗粒细胞和大颗粒细胞等分别占循环血细胞总量的 25.32%、61.79%和 12.89%^[17]。本实验在光镜下对血涂片随机选取视野，对各血细胞类型进行粗略统计，发现，无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞等分别占斑节对虾循环血细胞总量的 47.3%、13.1%和 39.6%，无颗粒细胞、小颗粒细胞和颗粒细胞等分别占黑斑口虾蛄循环血细胞总量的 29.6%、31.7%和 38.7%。

3 种甲壳类的 3 种血细胞分别所占比例差异相当显著，且哪一种占得最多亦有所不同，原因除研究方法不同外，甲壳类动物的不同生长时期及其不同的生理状态是否也会造成这种差异，有待更进一步研究。

本实验尚发现，斑节对虾的 3 种血细胞与黑斑口虾蛄的 3 种血细胞在结构、细胞大小、核质比、染色上都 颇为相似，估计它们的功能亦相似，亦即：①无颗粒细胞，估计有产生血蓝蛋白的作用，应属新生细胞；②小颗粒细胞，有可能从无颗粒细胞分化而来，参与一定的生理活动；③颗粒细胞，认为可能是最成熟的细胞，分泌物可能与凝血等生理功能有关，这有待进一步研究。

3.2 颗粒细胞分析

光镜观察斑节对虾和黑斑口虾蛄的颗粒细胞显示，即使是同一细胞内的颗粒，它们的着色情况也有较为显著的差异，即染色时这些颗粒有嗜酸性与嗜碱性差异，应为同一细胞内这些颗粒的成分不相同所致。同时也暗示我们，颗粒细胞内的颗粒可能不只一种，也许像鲎的血细胞一样有多种^[8]，分别负责不同的功能。即有的颗粒负责凝血外，有的颗粒可

能还有抗菌抗病毒的功能。通过光镜可以观察到一些细胞伸出伪足而变形, 说明这些细胞存在着一定的免疫能力, 其功能可能与哺乳动物的白细胞相似, 这也从另一个侧面说明以上可能的存在。至于哪一类型的血细胞免疫能力最强, 血细胞内有无抗菌抗病毒颗粒及若有抗菌抗病毒颗粒, 哪一类颗粒有抗菌抗病毒作用, 有待进一步研究。

观察还发现, 斑节对虾及黑斑口虾蛄均有一些很大的颗粒细胞, 细胞质内颗粒不明显, 导致这种结果可能是细胞破裂或颗粒排出, 也可能是染色不明显, 估计颗粒细胞分泌物或颗粒排出与凝血等生理功能有关。

3.3 口足目的血细胞种类

目前国内普遍认为, 口足目血液中除淋巴细胞外无其它血细胞。本实验结果表明, 黑斑口虾蛄的血细胞有无颗粒细胞, 小颗粒细胞和颗粒细胞 3 种。这就说明, 口足目与其它十足目等甲壳动物一样, 它们对疾病的免疫作用也应有一定的相似性。

参考文献:

- [1] 蔡渭明, 杜爱芳, 等. 中国对虾血细胞及其吞噬活力的电镜研究[J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(4): 418~424.
- [2] DALL W, 等. 对虾生物学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1995.
- [3] 张学舒, 陈佳颖. 虾鱼混养抗抑对虾暴发性流行病的探讨[J]. 水产科技情报, 1995, 22(2): 69~70.
- [4] 浙江动物志编辑委员会. 浙江动物志——甲壳类[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社.
- [5] 王凤计. 血液细胞学、附彩色图谱[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1990. 21~22.
- [6] 杨景山. 医学细胞化学与细胞生物学技术[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1990. 6~8.
- [7] 叶燕玲, 陈宽智. 中国对虾(*Penaeus chinensis*)血细胞超微结构、分类及计数[J]. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(2): 35~42.
- [8] SAITO T, KAWABATA S, SHIGEMAGA T, et al. A novel big defensin identified in horseshoe crab hemocytes: Isolation, amino acid sequence, and antibacterial activity[J]. J Biochemistry, 1995, 117(5): 1131~1137.

Comparative Study on Blood Indices of *Penaeus monodon* and *Oratosquilla kemp*i

LIAO Yong-yan^{*}, ZHOU You-guan, YE Fu-liang

Abstract: The results of comparative studies on blood indices of *Penaeus monodon* and *Oratosquilla kemp*i showed that blood cells of *Penaeus monodon* have three types: hyaline cell, semigranular cells and granular cells, as well as blood cells of *Oratosquilla kemp*i. The statistics showed that the hyaline cells, the semigranular cells and the granular cells of *Penaeus monodon* respectively constituted of 47.3%, 13.1%, 39.6% of the total amount of circulatory blood cells, as well as those of *Oratosquilla kemp*i: 29.6%, 31.7% and 38.7%.

Keywords: *Penaeus monodon*; *Oratosquilla kemp*i; blood cell count; blood indices; comparison

^{*} Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China